

УДК 531/534: [57+61]

РОЛЬ ЖИДКОЙ ФАЗЫ И ПОРИСТОЙ СТРУКТУРЫ ХРЯЩА В ФОРМИРОВАНИИ БИОМЕХАНИЧЕСКИХ СВОЙСТВ СУСТАВОВ. **ЧАСТЬ 2**

А.А. Суслов¹, С.Ф. Ермаков¹, А.В. Белецкий², С.В. Шилько¹, В.И. Николаев³

Аннотация. Антифрикционные характеристики суставов обусловлены синергизмом хрящевого матрикса и присутствующей в нем жидкой фазы, который проявляется, в частности, в существовании градиента механических свойств хряща по глубине. Для послойной диагностики указанных свойств с минимальным воздействием на биоткань использован метод контактного индентирования и разработано устройство, позволяющее измерить контактные деформации с нанометрической точностью. Изучен процесс деформирования образцов суставных хрящей колена свиньи при сжатии и разгрузке в различных жидких средах; получены данные об изменении модуля упругости по глубине хряща. Показано, что, анализируя деформирование хряща в цикле «нагрузка/разгрузка», можно подбирать искусственные смазки, адекватные натуральной синовии. Разработанная экспериментальная техника применима для выбора материалов эндопротезов.

Ключевые слова: сустав, хрящ, синовиальная жидкость, жидкокристаллические соединения, контактное индентирование, модуль упругости.

Введение

Ранее было показано, что суставной хрящ является адаптивным физически функциональные свойства которого материалом, автоматически регулируются биохимическими и биомеханическими факторами [3]. Осуществление хрящом его функций возможно при условии подвижности межфазной границы динамически оптимального соотношения хрящевого матрикса и синовиальной жидкости.

Хрящ как двухфазный композит характеризуется значительным градиентом деформационных свойств по глубине, отражающим морфологические и биохимические изменения данной структуры (включая соотношение твердой и жидкой фаз) при удалении от поверхности. Чтобы определить градиент механических характеристик, например, модуля упругости, т.е. проследить его распределение по толщине хряща, измерения должны проводиться для тонких, насколько возможно, слоев указанной биоткани. Обычно выделяют четыре характерные зоны хряща сустава человека: поверхностную, промежуточную, радиальную и кальцинированную [1, 2, 4-6]. Наиболее тонкая, поверхностная зона имеет толщину порядка 0,2–0,6 мм [1, 2, 4–6], что приводит к необходимости исследования образцов толщиной не менее 0,2 мм. Исходя

¹ Институт механики металлополимерных систем им. В.А. Белого Национальной академии наук Беларуси, Беларусь, 246050, Гомель, ул. Кирова, 32a, e-mail: Shilko_mpri@mail.ru

Республиканский научно-практический центр травматологии и ортопедии, Беларусь, 220000, Минск, ул. Кижеватова, 60/4 ³ Гомельский государственный медицинский университет, Беларусь, 246000, Гомель, ул. Ланге, 5

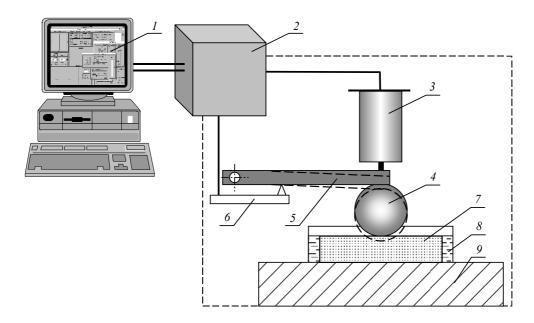


Рис. 1. Схема устройства для микроиндентирования хрящей: I — компьютер; 2 — электронный блок; 3 — электромагнит; 4 — сферический индентор; 5 — опора индентора; 6 — пьезоэлектрическое устройство атомно-силового микроскопа; 7 — образец; 8 — жидкая среда; 9 — перемещаемая платформа

из особенностей работы сустава (сжатие конформных тел), целесообразно использовать метод контактной диагностики инденторами, имеющими кривизну того же масштаба, что и суставное сопряжение. Модуль упругости может быть определен на основании решения Герца для сжатия шара и упругого полупространства. Однако вследствие малой толщины образца усиливается влияние подложки, что снижает точность указанной оценки [1, 6]. Очевидно, меньшая глубина внедрения индентора может снизить влияние твердой подложки, и при определенном соотношении толщины образца и глубины индентирования можно получить приемлемые результаты.

Техника эксперимента

Для реализации схемы испытаний, обеспечивающей определение контактного модуля упругости тонких слоев хряща с использованием макроскопического индентора, было разработано специальное устройство (рис. 1). В качестве индентора использовался шар диаметром 4 мм из закаленной стали. Нагружение производилось электромагнитом, управляемым компьютером через электронный блок (см. рис. 1) с калибровкой по схеме компенсации весовой нагрузки. Датчик перемещений и обратная связь обеспечивали индентирование при постоянном усилии либо перемещении. Измерительная система, датчиком которой служил высокочувствительный зонд атомно-силового микроскопа, регистрировала глубину индентирования с нанометрической точностью, позволяя минимизировать силовое воздействие на образец.

Калибровка датчика перемещений производилась по традиционной для зондовых микроскопов схеме. Устройство позволяет размещать образец в жидкой среде и исследовать влияние последней на деформационные характеристики.

Используя устройство, образцы хрящей коленного сустава свиньи исследовали на сжатие и восстановление в различных средах. Образцы хрящей отбирали не позже, чем через 12 часов *post mortem* и использовали в экспериментах без хранения. Образцы готовили следующим образом. Цилиндр диаметром 6 мм вырезался из среднего

мениска в самой толстой части (приблизительно 3 мм). После этого каждый цилиндр разрезался параллельно суставной поверхности на образцы толщиной 0,5 мм, начиная от поверхности. Так тестировались слои хряща по глубине 0; 0,5; 1,0; 1,5 и 2,0 мм от суставной поверхности.

В экспериментах использовались следующие жидкие среды:

- 1. натуральная синовия, взятая не позднее 12 часов *post mortem* и исследуемая без хранения;
- 2. псевдосиновия, приготовленная согласно [9] и содержащая 2% водный раствор натриевой соли карбоксиметилцеллюлозы с дополнением неорганических солей;
- 3. псевдосиновия с добавлением 2% по весу жидкокристаллических эфиров холестерина [1, 7];
- 4. сыворотка крови;
- 5. физиологический раствор.

Исследуемые образцы погружались в среду так, чтобы жидкость не покрывала поверхность слоя хряща. Эксперименты проводились при окружающей температуре 22–24 °C.

При статическом нагружении производилось индентирование образца со скоростью нормального перемещения 100 мкм/мин до достижения заданного усилия с последующей выдержкой под нагрузкой в течение 60 с, после чего осуществлялось плавное снятие нагрузки.

В условиях циклических испытаний нагружение и разгрузка чередовались с частотой около 0,1 Гц. Максимальное усилие индентирования задавалось равным 16 Н при статическом и 3,5 Н при динамическом нагружении соответственно.

Максимальная глубина индентирования в обоих случаях не превышала 200 мкм. В диапазоне создаваемых нагрузок пластические деформации испытуемых тонких слоев хряща отсутствовали. Результаты измерения усилий и перемещений сохранялись и обрабатывались на компьютере.

Статическое нагружение

Индентирование образцов хряща при статическом способе выполнялось на заданную глубину. После регистрации нормального усилия модуль упругости вычислялся исходя из решения Герца

$$E = \frac{3}{4} \frac{P}{\sqrt{r \, \delta^3}} \,,$$

где r – радиус индентора; P – нормальное усилие; δ – глубина индентирования.

Анализ полученных данных (рис. 2) показывает, что реологические характеристики окружающей среды оказывают заметное влияние на реакцию матрикса хряща на прикладываемую нагрузку.

Среди исследуемых жидкостей максимальную жесткость имеют образцы хряща в среде натуральной синовии. Псевдосиновия с добавлением жидких кристаллов показывает наиболее близкие к синовии свойства. Это может быть подтверждением теории, предложенной в [1], по которой жидкокристаллические компоненты натуральной синовии являются ответственными за деформационные и фрикционные свойства хряща.

Самый высокий модуль упругости имеют поверхностные слои хряща. Этот результат хорошо согласуется с известными данными [1, 6]. Коллагеновые волокна и сплющенные хондроциты, формирующие поверхностную зону, ориентируются в хряще вдоль суставной поверхности. Такая структура обеспечивает высокую прочность

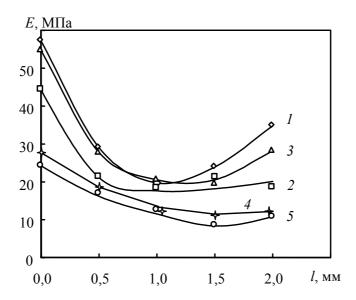


Рис. 2. Распределение модуля упругости по толщине хряща при статическом нагружении в различных средах: *I* — натуральная синовия; *2* — псевдосиновия; *3* — псевдосиновия с добавкой жидких кристаллов; *4* — сыворотка крови; *5* — физиологический раствор

при растяжении и сжатии этой области матрикса. В отличие от поверхностных слоев, коллагеновые волокна и другие компоненты матрикса во внутренних зонах хряща беспорядочно расположены или ориентированы перпендикулярно к суставной поверхности [2, 5]. Поэтому промежуточные и радиальные зоны более эластичны и имеют пониженное сопротивление сжатию по сравнению с поверхностной зоной матрикса хряща. Таким образом, неоднородная структура хряща наряду со структурной особенностью в виде подвижности межфазной границы «матрикс-синовия», по-видимому, обладает выраженной зависимостью модуля упругости от сжимающего напряжения, ранее отмеченной в [8].

Измерения восстановления образцов хряща немедленно после разгрузки показали, что наименьший гистерезис (5-10%) также имеет место в среде синовиальной жидкости. В среде псевдосиновии с добавкой жидких кристаллов был достигнут самый близкий результат к синовии (10-15%-ный гистерезис). Гистерезис слоев хряща в псевдосиновиальной жидкости составлял 20-30%. Максимальные значения этого параметра были получены в физиологическом растворе: некоторые образцы имели более чем 50%-ный гистерезис.

Таким образом, наилучшие характеристики статического сжатия слоев хряща были получены в среде натуральной синовиальной жидкости. Это свидетельствует о синергизме матрикса и синовии, обеспечивающем оптимальные характеристики суставного сопряжения.

Циклическое нагружение

Индентирование слоев хряща при циклическом нагружении осуществлялось при постоянной амплитуде сжимающего усилия. Глубина индентирования увеличилась с каждым циклом «нагружение/разгрузка», поскольку задержка упругого восстановления компенсировалась устройством, автоматически поддерживающим постоянную нагрузку. Когда глубина индентирования достигала 200 мкм, испытания прекращались.

Результаты сжатия слоев хряща при циклическом способе нагружения были практически такими же, как и при статическом нагружении (рис. 3). Тем не менее расчетные значения модуля упругости были ниже, особенно для поверхностных слоев.

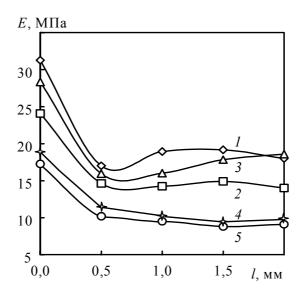


Рис. 3. Распределение модуля упругости по толщине хряща при циклическом нагружении в различных средах: I — натуральная синовия; 2 — псевдосиновия; 3 — псевдосиновия с добавкой жидких кристаллов; 4 — сыворотка крови; 5 — физиологический раствор

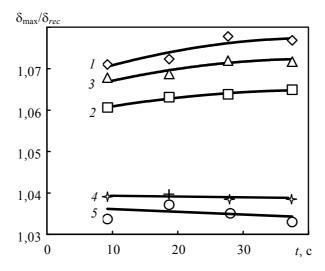


Рис. 4. Изменение соотношения между максимальной глубиной индентирования и глубиной после разгрузки при циклическом нагружении в различных средах: I — натуральная синовия; 2 — псевдосиновия; 3 — псевдосиновия с добавкой жидких кристаллов; 4 — сыворотка крови; 5 — физиологический раствор

Это может быть вызвано сниженной скоростью упругого восстановления биоткани в более глубоких слоях и возрастанием глубины индентирования с каждым циклом. В данном случае распределение модуля упругости поперек внутренних слоев хряща отличается от наблюдаемого при статическом нагружении: более глубокие зоны показывают более медленное восстановление матрикса хряща в этой области.

Соотношение максимальной глубины индентирования δ_{max} и глубины внедрения после разгрузки образца δ_{rec} для поверхностных слоев хряща представлено на рис. 4.

Натуральная синовия обеспечивала более быстрое и полное восстановление поверхностных слоев хряща при циклическом нагружении и разгружении в сравнении с в другими средами.

Псевдосиновия с добавками жидких кристаллов также показала наиболее близкие к синовии результаты. Отмечено, что отношение $\delta_{max}/\delta_{rec}$ увеличивалось со

временем, что означает, что сопротивление хряща повышается при сжатии. Однако эта закономерность не сохранялась, когда в качестве сред выступали физиологический раствор и сыворотка крови. По-видимому, главной причиной в наблюдаемом поведении образцов хрящей является высокая вязкость и неньютоновские свойства первых трех жидкостей.

Таким образом, анализируя поведение хряща в циклах «нагружение/разгрузка», можно проверять соответствие искусственных смазок натуральной синовии, которая является эталоном суставной жидкости.

Заключение

Показана возможность использования индентирования тонких слоев хряща для характеризации градиента механических свойств хряща по глубине. Разработано устройство, обеспечивающее нанометрическую точность измерения глубины индентирования. Найдено распределение модуля упругости по глубине хряща. Анализ сжатия и восстановления хряща при статическом и циклическом видах нагружения в различных средах позволяет оценить эффективность жидких смазок при замене натуральной синовии.

Список литературы

- 1. *Купчинов, Б.И.* Биотрибология синовиальных суставов / Б.И. Купчинов, С.Ф. Ермаков, Е.Д. Белоенко. Минск: Веды, 1997.
- 2. Павлова, В.Н. Хрящ / В.Н. Павлова, Т.Н. Копьева, Л.И. Слуцкий, Г.Г. Павлов. М.: Медицина, 1988.
- 3. *Шилько, С.В.* Роль жидкой фазы и пористой структуры хряща в формировании биомеханических свойств суставов. Ч. 1 / С.В. Шилько, С.Ф. Ермаков // Российский журнал биомеханики. 2008. Том 12, № 2. С. 31–41.
- 4. Basic orthopaedic biomechanics / Ed. by V. C. Mow, W. C. Hayes. New York, Raven Press, 1991. 450 p.
- 5. *Buckwalter, J.A.* Articular cartilage: tissue design and chondrocyte–matrix interactions / J.A. Buckwalter, H.J. Mankin // AAOS Inst. Course Lect. 1998. Vol. 47. P. 477–486.
- 6. *Kempson, G.E.* The determination of creep modulus for articular cartilage from indentation tests on the human femoral head / G.E. Kempson, M.A.R. Freeman, S.A.V. Swanson // J. Biomechanics. 1971. Vol. 4. P. 239–250.
- 7. *Kupchinov*, *B.I.* The effect of liquid crystals on joint lubrication / B.I. Kupchinov, S.F. Ermakov, V.G. Rodnenkov, S.N. Bobrysheva, E.D. Beloenko // Wear. 1994. Vol. 171. P. 7–12.
- 8. *Pleskachevsky, Yu.M.* Methods of wear reducing based on bioprototypes of tribojoints / Yu.M. Pleskachevsky, S.V. Shilko, S.F. Ermakov // Journal of Synthetic Lubrication. 2005.– Vol. 22, No. 4. P. 225–236.
- Pseudosynovial plastic body fluids and methods of preparing same. Patent 1 391 577, Great Britain, C08L 1/28.

THE ROLE OF LIQUID PHASE AND POROUS STRUCTURE OF THE CARTILAGE IN FORMATION OF BIOMECHANICAL PROPERTIES OF THE JOINTS. PART 2

A.A. Suslov, S.F. Ermakov (Gomel, Belarus), A.V. Beletzky (Minsk, Belarus), S.V. Shilko, V.I. Nikolaev (Gomel, Belarus)

Antifrictional characteristics of joints are caused by cartilage matrix and fluid phase synergism and are characterized particularly by gradient of mechanical properties of cartilage. To test these properties with minimal action on biotissue, the contact indentation method has

been used and a device for contact displacement measuring with nanometer accuracy has been developed. The process of the pork knee joint cartilage deforming under compression loading and unloading (relaxation) in some liquid lubricants has been studied. Based on obtained data, the elastic modulus for the cartilage layers is derived. Analysis of the cartilage behavior under loading/unloading cycles allows us to choose artificial lubricants which are most adequate to the natural synovia. The developed technique can be successfully applied for testing materials used in artificial joints as well.

Key words: joint, cartilage, sinovial fluid, liquid-crystalline compounds, contact indenting, elastic modulus.

Получено 04 ноября 2008

Информация об авторах

Андрей Анатольевич Суслов, к.т.н., с.н.с. отдела «Жидкокристаллические материалы и лигнопластики» Института механики металлополимерных систем им. В.А. Белого Национальной академии наук Беларуси, Shilko mpri@mail.ru

Сергей Федорович Ермаков, заведующий отделом «Жидкокристаллические материалы и лигнопластики» Института механики металлополимерных систем им. В.А. Белого Национальной академии наук Беларуси, Shilko_mpri@mail.ru

Александр Валентинович Белетский, директор Республиканского научно-практического центра травматологии и ортопедии

Сергей Викторович Шилько, заведующий отделом «Механика адаптивных материалов и биомеханика» Института механики металлополимерных систем им. В.А. Белого Национальной академии наук Беларуси, Shilko_mpri@mail.ru

Владимир Иванович Николаев, зав. кафедрой травматологии, ортопедии и военно-полевой хирургии, Гомельского государственного медицинского университета